第32卷 第1期　　昆虫学报　　Vol. 32, No. 1
1989年2月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Feb., 1989

外源保幼激素类似物对七星瓢虫血淋巴中卵黄原蛋白含量的影响*

关雪辰
(中国科学院动物研究所，北京)

摘要 本文以不同剂量的保幼激素(JH)类似物点滴七星瓢虫雌虫，测定了生殖过程中卵母细胞的长度及血淋巴中卵黄原蛋白(Vg)及总蛋白的含量。结果表明：1.点滴不同剂量 ZR-512 于虫体后，皆可促进卵母细胞生长，尤以点滴 100μg 效果最为明显。2.点滴 ZR-512 后可以促进 Vg 合成，血淋巴中 Vg 含量皆明显提高，以点滴 100μg 效果最好。3.点滴不同剂量 ZR-512 后，雌虫血淋巴中总蛋白含量变化与 Vg 含量变化的规律相似。4.血淋巴中的 Vg 含量与卵母细胞长度有一定相关性。另外，讨论了不同剂量外源 JH 类似物对 CA 活性、内源 JH 水平、Vg 含量以及卵母细胞生长的影响。

关键词　七星瓢虫　保幼激素类似物　卵黄发生　卵黄原蛋白　卵母细胞

保幼激素 (juvenile hormone, JH) 是控制多种昆虫卵巢发育成熟的一种重要促性腺激素。JH 的促性腺作用主要在于促进卵黄发生，包括脂肪体对卵黄原蛋白 (vitellogenin, Vg) 的合成以及卵母细胞对卵黄原蛋白的摄取(龚和、翟启慧，1979)。

JH 对瓢虫卵巢发育及 Vg 合成的促进作用已有不少研究资料。Hodek 等(1973)曾用昆虫 JH 类似物打破瓢虫(*Semiadalia undecimnotata*, *Coccinella septempunctata*)的滞育，促使雌虫卵巢发育并产卵。仇序佳等(1981)应用 JH 类似物 ZR-512 体外点滴取食蚜虫的七星瓢虫，能使雌虫的产卵率和产卵量显著提高，并使产卵前期也明显缩短。龚和等(1982)证明体外点滴 ZR-512 能使取食人工饲料的七星瓢虫雌虫血淋巴中新合成的 Vg 增加 4—5 倍。张建中、翟启慧(1985)进一步证明取食人工饲料的雌虫点滴或喂食 ZR-512 后，脂肪体中 Vg 的合成在高峰期比对照组分别增加 44 倍和 67 倍。

昆虫的咽侧体 (corpora allata, CA) 是 JH 生物合成的部位，CA 合成 JH 的能力(一般称为 CA 活性)受许多生态和生理因子的影响 (Kramer, 1978; Schooneveled 等, 1979)。关雪辰(1986)曾研究外源 JH 类似物对 CA 活性的效应，观察到一定量的外源 JH 可以促进 CA 活性，从而提高血淋巴内 JH 的浓度。为了进一步了解 CA 活性变化与卵黄原蛋白合成的关系，作者以不同剂量的 ZR-512 处理取食不同食料的七星瓢虫雌虫，研究了外源 JH 对卵母细胞发育和血淋巴 Vg 含量的影响。

材料与方法

1. 实验昆虫　系采自北京、河南安阳和云南昆明的自然种群。所采集的蛹在室内羽化

本文于 1986 年 9 月收到。
* 本课题为中国科学院科学基金资助项目。

后，用菜蚜或人工饲料饲养。人工饲料为鲜猪肝、蜂蜜、蔗糖（5:1:1,W/W）。光照为每天 24 小时，温度为 25—30℃。

2. JH类似物处理　供实验的 JH 类似物为 ZR-512（比重 0.968，有效成分约 65%，美国 Zoecon 公司生产）。以丙酮稀释成 1 微升中实际有效成分为 10、50、100 和 200 微克的浓度，用微量注射器在雌虫腹部背板进行点滴，每虫 1 微升，并以点滴丙酮的雌虫作对照。取食蚜虫的雌虫于羽化后第 4 天点滴，取食人工饲料的雌虫于羽化后第 6 天点滴。

3. 卵母细胞发育的测量　生殖期的雌虫卵巢根据卵巢管的分化和卵黄沉积量可分为 4 级（关雪辰，1986）。于生理盐液中摘取生殖初期、盛期及产卵后雌虫的卵巢管，分离出末端卵母细胞，小心摘去脂肪体，每头雌虫随机取 10 个卵母细胞于解剖镜下测其长度。

4. 血淋巴中卵黄原蛋白和总蛋白的定量测定　雌虫在摘取卵巢前取血淋巴，血淋巴中卵黄原蛋白含量用免疫火箭电泳定量测定（陈民均，内部资料）。电泳条件如下：琼脂糖浓度为 1%，两极端电压 35V，相对电流 36.2mA，电泳缓冲液为 0.05*M* 巴比妥钠、pH8.6，染液为 0.04% 考马斯蓝 G-250，电泳时间 1 小时。血淋巴中总蛋白的含量按 Lowry 等（1951）的方法测定。

结　　果

1. 不同剂量 ZR-512 对卵母细胞发育的影响

以 10、50、100 和 200 微克/微升 ZR-512 分别点滴取食蚜虫和人工饲料的雌虫，测定不同发育期末端卵母细胞的长度，以了解不同剂量 ZR-512 对卵母细胞发育的影响，结果见图 1、2 和 3。

取食蚜虫组：对照组雌虫发育至第 10 天，卵母细胞最长约 960μm。点滴 10、50 微克 ZR-512 后，卵母细胞较对照组生长的速度加快，点滴后 1 天（即羽化后第 5 天），卵母细胞长度达最大，分别为 564、730μm。此时对照组只有 360μm。点滴 100、200 微克 ZR-512 后卵母细胞长度急剧增长，发育至第 5 天时，卵母细胞长度分别为 1180、1020μm。对

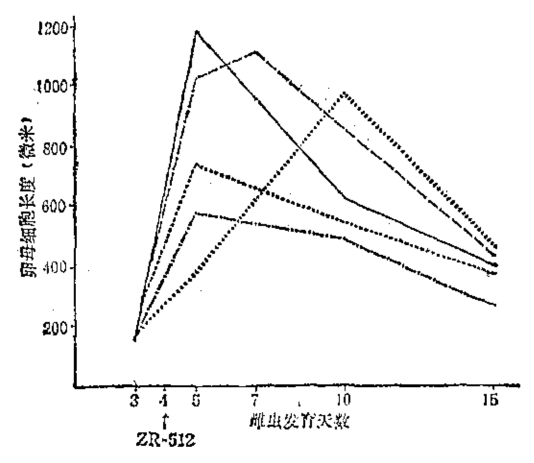


图 1　不同剂量 ZR-512 处理后（食蚜虫）成虫的发育与卵母细胞生长的关系
······点丙酮（对照）　—·—·10 微克　------50 微克　——100 微克　---200 微克

照组约为 360μm（见图 1）。因此，点滴 ZR-512 后可以促进卵母细胞生长，而且高浓度 ZR-512 较低浓度效果更好。如以 100 微克和 10 微克相比，点滴后 1 天，前者卵母细胞长度比后者增长约一倍。

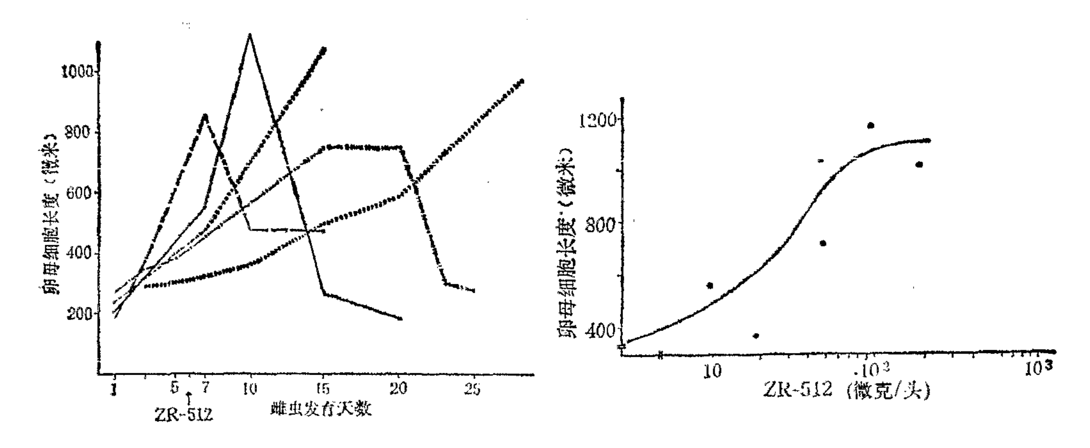


图 2 不同剂量 ZR-512 处理后（食人工饲料）成虫的发育与卵母细胞生长的关系
图标见图 1。

图 3 成虫发育 5 天（食蚜虫）不同剂量的 ZR-512 与卵母细胞长度的关系

取食人工饲料组：对照组雌虫的卵母细胞在处理后 14 天（即羽化后 20 天）内增长缓慢，14 天后明显增长，22 天时达 960μm。而 10、100 和 200 微克 ZR-512 各组，分别在点滴后 9、4、1 天时，卵母细胞达最大长度，即 740、1120、840μm（见图 2）。所以取食人工饲料的雌虫点滴 ZR-512 后，同样也可以不同程度地加速卵母细胞的生长，尤其以点滴 100 微克最好。点滴 100 微克和 10 微克相比，在 ZR-512 处理后 4 天，前者卵母细胞长度比后者（约 550μm）增长约一倍。由图 3 可看出食蚜虫雌成虫发育 5 天时，不同剂量（>200μg）的 ZR-512 与卵母细胞长度几呈正相关。

2. 不同剂量 ZR-512 对雌虫血淋巴中 Vg 含量的影响

利用火箭电泳方法，对点滴不同剂量 ZR-512 后不同发育期的雌虫血淋巴中 Vg 含量进行了测定，结果见图 4、5。

取食蚜虫组：对照组雌虫在羽化后发育过程中血淋巴 Vg 含量逐渐增加，羽化后第 15 天时，Vg 含量可达 65μg/μl。点滴 10μg 后 3 天（即羽化后第 7 天）血淋巴 Vg 可达 74.4μg/μl。点滴 100、200μg，Vg 含量增加更为明显。在处理后第 5 天（即羽化后第 9 天）时分别达 264、185μg/μl。明显高于对照组。以上结果表明，点滴 ZR-512 可以促进 Vg 合成，而且点滴 100μg ZR-512 最为有效。如图 4 所示，点滴 100μg 与点滴 10μg 相比，处理后 3—5 天时，前者 Vg 平均含量为后者 Vg 平均含量的 2.5 倍。

取食人工饲料组：对照组雌虫在羽化后 10 天内血淋巴中 Vg 含量缓慢增加，发育至 15 天时为 44μg/μl。点滴 10μg/μl ZR-512 后，Vg 含量逐渐增加，发育到第 10 天时，Vg 含量为 56μg/μl。点滴 200μg/μl ZR-512 后明显增加，发育到第 10 天时，Vg 含量高达 134μg，约为点滴 10μg 组 Vg 含量的 2.4 倍。所以取食人工饲料的雌虫点滴 ZR-512 后，在不同发育期血淋巴中的 Vg 含量皆高于对照组。

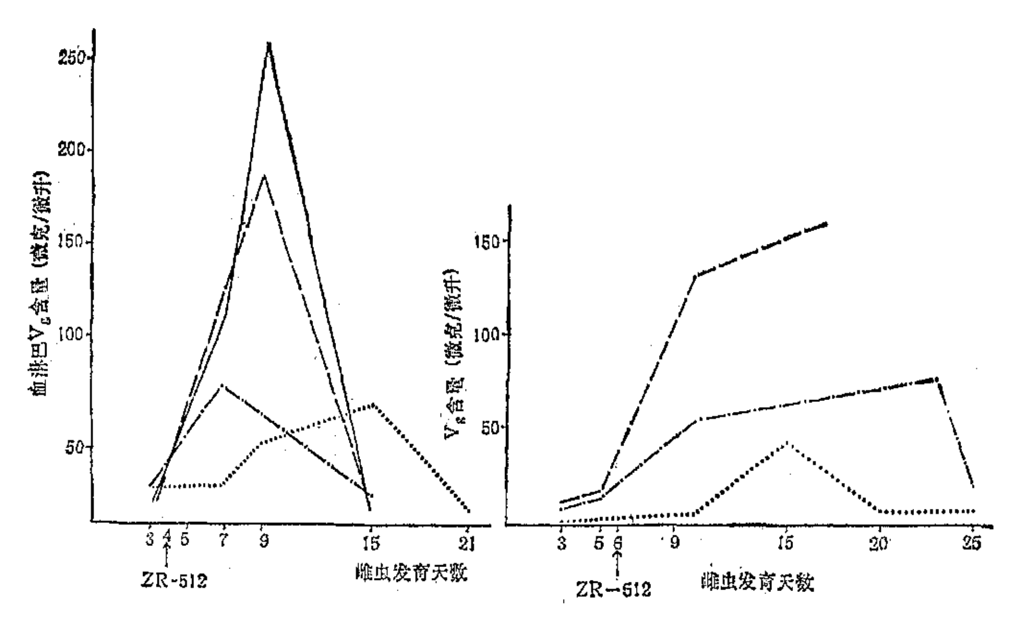


图 4　不同剂量 ZR-512 处理后（食蚜虫）成虫的发育与 Vg 含量的关系
图标见图 1。

图 5　不同剂量 ZR-512 处理后（食人工饲料）成虫发育与 Vg 含量的关系
图标见图 1。

3. ZR-512 处理后雌虫血淋巴中蛋白含量的变化

利用 Folin 反应测定了 ZR-512 处理后雌虫发育过程中血淋巴蛋白含量的变化。由图 6 和 7 可看出，无论是取食蚜虫，还是取食人工饲料的雌虫，经 ZR-512 处理后，血淋巴中蛋白含量一般皆高于对照组。取食蚜虫的雌虫，点滴 ZR-512 后发育到第 9—10 天血淋巴中蛋白含量达最高，以点滴 100μg 为好。取食人工饲料的雌虫点滴 200μg ZR-512 后，发育到第 15 天血淋巴蛋白含量达最高，近乎于对照组的 2.5 倍。

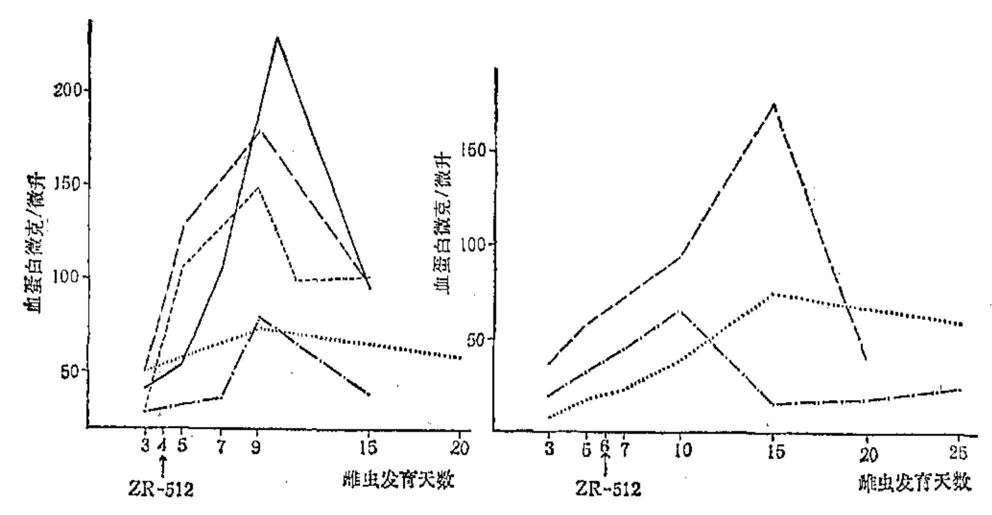


图 6　不同剂量 ZR-512 处理后（食蚜虫）成虫的发育与血蛋白量间的关系
图标见图 1。

图 7　不同剂量 ZR-512 处理后（食人工饲料）成虫的发育与血蛋白量间的关系
图标见图 1。

4. 血淋巴中 Vg 含量与卵母细胞长度的相关性

雌虫在生殖活动期脂肪体合成 Vg，然后释放到血淋巴中被生长的卵母细胞摄取。结果表明血淋巴中 Vg 含量与卵母细胞长度之间有并行关系。以点滴 100μg ZR-512 取食蚜虫组为例：发育 1 天时，卵母细胞长度为 170μm，血淋巴中没有检测出 Vg 含量；发育至第 3 天时，卵母细胞为 260μm，血淋巴中 Vg 含量为 11μg/μl；发育第 5、7、9 天，卵母细胞长度分别为 1180、950、730μm，血淋巴中 Vg 含量分别为 57、112、264μg/μl（见图 8）发育至第 15 天，雌虫大部分已产卵。另外还可看出雌虫羽化后随着羽化天数的增加，首先可测出卵母细胞的增长。羽化 5 天时卵母细胞长度达最大值。羽化 3 天时，可检测出 Vg 含量，9 天时可测出 Vg 的最大值。

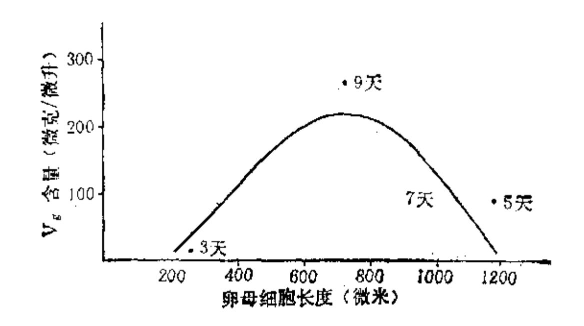


图 8 100μg/头 ZR-512 处理后（食蚜虫）成虫的卵母细胞长度与 Vg 含量的关系

讨 论

保幼激素作为一种促性腺激素。可以促进雌虫的生殖活动（Brookes V. J., 1969; Engelman, 1970）。我们用不同剂量的保幼激素类似物处理生殖期雌虫，以观察其对卵母细胞生长的影响及对卵黄原蛋白合成的促进作用，结果表明：保幼激素类似物作用于完整的昆虫可以促进卵母细胞生长，而且卵母细胞生长的速率与 JH 类似物的浓度相关。例如点滴 10—50μg 时卵母细胞的生长略高于对照组，而点滴 100—200μg 后，卵母细胞的增长明显高于对照组。若以点滴 100μg 与点滴 10μg 相比，经 $t_{0.05}$ 检验前者对卵母细胞生长及 Vg 含量的影响明显大于后者，两者相比差异显著。所以本文实验结果证明卵母细胞的生长和血淋巴中 Vg 含量均与所施加外源保幼激素类似物的浓度（>200μg）成正相关。高剂量的 ZR-512 可加速卵母细胞发育和提高血淋巴中 Vg 含量。这可能是由于外源类似物和内源保幼激素的累积结果，使体内具有保幼激素活性化合物的总浓度升高之故。我们在七星瓢虫中所得的结果与 Toke 和 Stay (1979) 在 *Diploptera punctata* 中的结果完全一致。

参 考 文 献

仇序佳等 1981 昆虫保幼激素类似物对七星瓢虫成虫生殖效应。动物学集刊 No 1, 185—92。
关雪辰 1987 保幼激素类似物对七星瓢虫成虫咽侧体活性的效应。动物学集刊 No 5, 1—6。
关雪辰、陈娥英 1986 七星瓢虫雌成虫咽侧体的活性。昆虫学报 29(1): 10—6。
龚和、翟启慧 1979 昆虫卵黄原蛋白和卵黄发生。昆虫学报 22(2): 219—36。
龚和等 1982 七星瓢虫卵黄原蛋白的合成。动物学集刊 No 2, 175—81。

张建中、翟启慧 1985 七星瓢虫的卵黄发生：保幼激素类似物对卵黄原蛋白合成的调节。昆虫学报 28(2)：121—

Brookes, V. J. 1969 The induction of yolk protein synthesis in the fat body of an insect, *Leucophaea maderae*, by an analog of the juvenile hormone. *Dev. Biol.* **20**: 459—71.

Engelman, F. 1970 Hormonal control of egg maturation. In: the Physiology of Insect Reproduction, 143—89. Pergamon Press, Oxford.

Engelman, F. et al. 1971 Juvenile hormone control of female specific protein synthesis in *Leucophaea maderae*, *Schistocerca vaga*, and *Sarcophara bullata*. *J. Insect Physiol.* **17**: 2179—91.

Hodek, Ruzika et al. 1973 Termination of diapause by juvenoids in two species of ladybirds (Coccinellidae). *Experientia* **29**: 1146—7.

Kramer, S. J. 1978 Age-dependent changes in corpus allatum activity in vitro in the adult Colorado potata beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* **24**: 461—4.

Lowry, O. H. et al. 1951 Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265—75.

Schooneveld, H. et al. 1979 Evidence of controlled corpus allatum activity in the adult Colarado potato beetle *J. Insect Physiol.* **25**: 449—53.

EFFECTS OF EXOGENIC JUVENILE HORMONE ANALOGUE ON HAEMOLYMPH VITELLOGENIN CONTENT IN *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA* L.

GUAN XUE-CHEN

(*Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing*)

The effects of the juvenile hormone analogue (JHA) on the development of oocytes and the synthesis of vitellogenin (Vg) were studied by treating the female seven spotted lady beetle *Coccinella septempunctata* L. with different doses of ZR 512. The length of the oocytes and the amounts of Vg and total protein in the haemolymph at different stages of ovarian development were determined. The results are as follows:

After topical application on the abdominal segments with ZR 512 in a suitable range of dosage on the dorsal side, the rate of oocyte growth was nearly positively correlated with the dosage of JHA appled. The most effective dose seemed to be about 100 μg per beetle.

The JHA stimulated Vg synthesis in the fat bodies of the insect. After the topical application with ZR 512 the Vg content in the haemolymph increased markedly and it was most effective when 100 μg of JHA was applied.

After the topical application with ZR 512 in different doses the change of the total protein content in the haemolymph followed the same course of change as shown by vitellogenin.

The content of Vg in haemolymph was positively correlated with the length of the oocyte in the early stage of vitellogenesis.

Key words *Coccinella septempunctata* L.——juvenile hormone analogue——vitellogenesis——vitellogenin——oocyte